



TiBO

İNÖVATİF BİYOTEKNOLOJİ ORGANİZASYONU

DECOCENT

MİKROBAKTERİLERİN MİKROSKOP, KÜLTÜR VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE TANISI İÇİN HIZLI DEKONTAMİNASYON VE KONSANTRASYON KİTİ

Katalog No:DCC010-011

Kullanım Yönergesi

Canlı Dışında Kullanım İçindir

Ürünün İsmi:

DECOCENT

Kullanım Amacı:

DECOCENT bir dekontaminasyon ve konsantrasyon kitidir. Mikobakterilerin mikroskopik inceleme, kültür ve moleküler yöntemlerle saptanması ve üretilmesi amacı ile örneklerin işlenmesinde kullanılır.^{1,2} **İn vitro kullanım içindir.**

Genel Bilgi:

DECOCENT, Kubica tarafından önerilen "Sodyum hidroksit – N-asetil-L-sistein" dekontaminasyon ve konsantrasyon yönteminin^{1, 2, 3} bir modifikasyonu olup, bu yöntemin zorlukları ve dezavantajlarını ortadan kaldırmak amacı ile hazırlanmıştır. İçerdiği pH indikatörü ve orijinal nötralizasyon sıvısı sayesinde Kubica yöntemindeki pH'ın zor ayarlanması sorunun ortadan kaldırmaktadır. Kolay ve güvenli bir şekilde örnek işleme için gerekli tüm malzemeleri içermektedir. Bu yöntem, balgam gibi örneklerin sıvılaştırılması, mikobakterilerin çöktürülmesi, diğer mikroorganizmaların seçici olarak öldürülmesi ve böylece klinik örneklerde mikobakterilerin daha etkili bir şekilde saptanmasını sağlar. **DECOCENT**, işleme için gerekli tüm malzemeleri her örnek için ayrı bir set halinde sunmaktadır. Böylece çapraz ve genel kontaminasyon önlenerek önemli bir zaman ve emek artırımını sağlanmaktadır.

Yöntemin kısıtlı yanları:

DECOCENT mikobakterilerin saptanmasında önemli bir yardımcıdır, ancak tek başına mikobakteri tanısı için kullanılan bir araç değildir. Mikobakteri dışındaki bazı organizmalar dekontaminasyon işlemine dirençli olabilir ve işlem sonunda canlı kalabilir.

Yöntemin Bilimsel Temeli:

Balgam gibi klinik örnekler mikobakteri dışında çok çeşitli mikroorganizmalar içerirler. Dekontaminasyon çözeltisinin içerdiği sodyum hidroksit ile işleme sokulduğunda alkali pH'ya dayanıklı olan mikobakteriler canlı kalırken bu pH'ya duyarlı diğer mikroorganizmalar öldürülür. Dekontaminasyon çözeltisindeki pH indikatörü alkali pH'da morumsu kırmızı renktedir. Nötralizasyon çözeltisi asit ile desteklenmiş tampon çözeltiden oluşmaktadır. Dekontaminasyon işlemi tamamlanan örneğe eklendiğinde pH'ı nötralize ederek mikobakterilerin canlı kalmasını sağlar. Santrifüj işlemi ise bakterilerin çöktürülerek yoğunlaştırılmasını sağlar.

İçerik:

DCC010

Toplam 75 örnek için yeterli malzeme bulunmaktadır. Her örnek için:

- 75 adet plastik tüp içerisinde 10 mL pH indikatörlü NaOH çözeltisi.
- 75 adet plastik tüp içerisinde 10 mL asit katkılı fosfat tampon çözeltisi.

DCC011

Toplam 52 örnek için yeterli malzeme bulunmaktadır. Her örnek için:

- 52 adet plastik tüp içerisinde 10 mL pH indikatörlü NaOH çözeltisi.
- 52 adet plastik tüp içerisinde 10 mL asit katkılı fosfat tampon çözeltisi
- 52 adet örnek toplama tüpü

Dikkat Edilmesi Gerekenler ve Uyarılar:

- Canlı dışında (in vitro) kullanım içindir.
- Mikobakterilerin tanısında kullanılan laboratuvar yöntemleri, laboratuvar kaynaklı enfeksiyonların önlenmesi açısından özel önlemler gerektirir. Örnek işleme, düzey II biyogüvenlik odacığında gerçekleştirilmelidir. Bu işlemleri gerçekleştirecek kişiler özel eğitim almış olmalıdır.
- Laboratuvar enfeksiyonu olasılığını en aza indirecek şekilde ek önlemler alınmalıdır. En azından, örnek işleme, giriş çıkışı laboratuvar çalışanları ile sınırlandırılmış alanlarda yapılmalıdır.

Bu alanda yüzeyler, bir yüzey dezenfektanı ile silindiğinde kolayca temizlenebilecek şekilde olmalıdır.

- Klinik örneklerde mikobakteriler dışında Hepatit B virüsü, HIV gibi başka patojen mikroorganizmalar da bulunabilir. Kan ve başka vücut sıvıları kullanılırken evrensel ve laboratuvarınızın güvenlik kurallarına uyulmalıdır. Eğer bir tüpte sızıntı saptanır, herhangi bir yüzey kirlenirse uygun bir yüzey dezenfektanı ile laboratuvarınızın yönergelerine uygun olarak temizleyiniz.

Genel Güvenlik Kuralları:

- Enfeksiyon etkeni içerme olasılığı olan örneklerle çalışırken daima eldiven ve maske takılmalıdır.
- Pipetleme, çözelti ekleme, boşaltma gibi işlemler daima düzey II biyogüvenlik odacığında gerçekleştirilmelidir.
- Hiçbir zaman ağızla çekerek pipetleme yapılmamalıdır.
- Bakterilerin çöktürülmesi sırasında aerosollerin önlenmesi için hava geçirmez kapaklı sepetleri olan soğutmalı santrifüjlerin kullanılması önerilmektedir
- Kontamine bir sıvı dökülecek olursa %2,5'lik hipo-klorit çözeltisi ile temizlenmelidir.
- Dekontaminasyon veya nötralizasyon çözeltisi göz, deri veya mukozal yüzeylerle temas ederse acilen su ile yıkanmalı ve acil tıbbi yardım istenmelidir.
- Tüpler çevre güvenliğine uygun şekilde atılmalıdır.

Saklama Koşulları:

Oda sıcaklığında, nemsiz bir ortamda saklanmalıdır.

Bozulma Belirtileri:

Tüpler içerisinde yukarıda belirtilen miktarlarda madde bulunmuyorsa, çözeltilerin içinde bulanıklık veya çökelti varsa **DECOCENT** kiti kullanılmamalıdır.

Uygulama:

Balgam ve diğer sıvı solunum yolu örnekleri:

- Mikroskopik inceleme için, örnek işlemeye başlamadan önce, örnekten bir lam üzerine yayma yapılır ve kurutulur (doğrudan yayma yapılmış lamlara, işlenmiş örneğin eklenerek kurutulması, örneğin lama yapışmasını sağlayarak duyarlılığı artırır ve mikroskopta alan bulma ve incelemeyi kolaylaştırır).
- Balgam, bronko-alveoler yıkama sıvısı, mide sıvısı, plevral, perikardiyal veya peritoneal sıvılar gibi örneklerden en fazla 10 mL olacak şekilde 50ml'lik plastik santrifüj tüpü içerisine aktarın.
- Dekontaminasyon sıvısının tamamını örnek üzerine ekleyin. Tüpün kapağını sıkıca kapatın.
- Vorteksle çalkalayarak örneğin homojenize olmasını sağlayın. 15 dakika oda sıcaklığında bekletin. (Kontaminasyon oranı yüksek olan laboratuvarlarda bu süre 20 dakikaya kadar uzatılabilir ancak süre uzatmanın mikobakteri izolasyon şansını azaltacağı unutulmamalıdır.)
- Nötralizasyon çözeltisinin tamamını örnek tüpüne ekleyin. Tüpün kapağını sıkıca kapatın. Vorteksle çalkalayarak ya da alt üst ederek karıştırın.
- Tüpleri 15 dakika süresince 2000 x g oluşacak hızda ve tercihen yana açılabilir kaplı ve ısınma ve aerosol oluşumunu engellemek için) soğutmalı bir santrifüjde çevirin.
- Üst sıvıyı dikkatlice dezenfektan çözelti içeren bir toplama kabına aktarın. Tüp içerisinde yaklaşık 1 ila 3 mL sıvı bırakın. Tüpün kapağını sıkıca kapatın.
- Vorteksle çalkalayarak örneği (varsa mikobakterileri) süspansiyon haline getirin.

Bu süspansiyondan kültür tüplerine ekim yapılır, yayma için doğrudan yayma yapılmış lam üzerine konabilir, diğer tanı yöntemleri için kullanılabilir.

İdrar örnekleri:

Mikobakteri izolasyon şansını arttırmak için hastadan sabah ilk yapılan idrar örneği alınmalıdır.



TiBO

İNOVATİF BİYOTEKNOLOJİ ORGANİZASYONU

1. İdrar örneği, 50mL'lik santrifüj tüpü içerisine 50 mL çizgisine kadar doldurulur.
2. Tüpler 15 dakika süresince en az 2000 x g oluşacak hızda çevrilir.
3. Üst sıvı laboratuvarın güvenlik kurallarına dikkat ederek uzaklaştırılır. Dipte kalan 1-3 mL örnek alınıp yukarıda diğer örnekler için tanımlanan yöntemin 3. basamağından başlayarak işleme devam edilir.

Gerekli Ek Malzemeler:

- 50 mL'lik santrifüj tüpü
- 50 mL'lik santrifüj tüpüne uygun kaplı, (mümkünse soğutmalı) santrifüj
- Vorteks
- Otomatik pipetler veya pastör pipetleri
- Steril pipet uçları
- Mikobakterilerin incelenmesi için gerekli ve biyolojik tehlikeleri en aza indirmeye yarayan özel malzemeler (biyogüvenlik kabini, özel filtrelili maske, eldiven, vb.) ve uygulama yönergeleri.

Kalite Kontrol:

Pozitif kontrol: Mikobakteri katılmış solunum yolu salgıları.

Negatif kontrol: *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* katılmış solunum yolu salgıları

Uygulama için gerekli çözeltiler, zaman ve sıcaklık parametreleri

Kit içerisinde uygulama için gerekli tüm çözeltiler bulunmaktadır. Tüm uygulama 30–45 dakika kadar sürmektedir. Uygulama oda sıcaklığında, santrifüj işlemleri ise +4°C'da yapılmalıdır.

Zaman Kısıtlamaları:

Dekontaminasyon zamanı en az 15 dakika olmalıdır. Dekontaminasyonun kısa yapılması kontaminasyon olasılığını artırır. Dekontaminasyon zamanındaki uzamalar kontaminasyonu azaltmakla birlikte mikobakteri izolasyon şansını da azaltabilir.

Yöntemin Kısıtlı Yanları:

Diğer dekontaminasyon yöntemlerinde olduğu gibi **DECOCENT** ile örnek işleme örnekteki mikobakteri dışındaki tüm organizmaları öldürmeyebilir. Bu yöntem santrifüj işlemi gerektirmektedir. (Santrifüj gerektirmeyen bir yöntemle dekontaminasyon gerçekleştirilmek istenilirse **DECOMICS** kullanılabilir.).

Raf ömrü:

Bir yıl.

Kaynaklar:

1. Kubica GP, Dye WE, Cohn ML, Middlebrook G. Sputum digestion and decontamination with N-acetyl-L-cysteine-sodium hydroxide for culture of mycobacteria. 1963. Am. Rev. Respir. Dis. 87:775-779.
2. N-acetyl-L-cysteine-sodium hydroxide method for liquefaction and decontamination of specimens. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, Ninth Edition. Mosby-Year Book Inc. St. Louis, MO. USA. 1994, p:600.
3. Heifets LB, Good RC. Current laboratory methods for the diagnosis of tuberculosis. In "Tuberculosis" Ed. Bloom BR. ASM Press, Washington D.C. 1994. 85-110.

Üretici Firma:

İnovatif Biyoteknoloji Organizasyonu Tic. Ltd. Şti.

Ahmet Yesevi Mah. Kerem Sok.

No:9/1-7

Pendik 34903

İSTANBUL, TÜRKİYE

Katalog Numarası:

DCC010-011

